

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① N° de publication : **2 740 453**
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

②① N° d'enregistrement national : **95 12729**

⑤① Int Cl⁸ : C 07 K 5/08, 5/06, A 61 K 7/48

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 27.10.95.

③⑦ Priorité :

④③ Date de la mise à disposition du public de la
demande : 30.04.97 Bulletin 97/18.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule.*

⑥⑦ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : BIEUROPE SOCIETE ANONYME —
FR.

⑦② Inventeur(s) : AURIOL DANIEL HENRI, GALLOT
BERNARD MARIE THIERRY, et MONSAN PIERRE
EMMANUEL FREDERIC.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire : CABINET DE BOISSE.

⑤④ MELANGES PEPTIDIQUES, LEUR PREPARATION ET COMPOSITIONS COSMETIQUES LES CONTENANT.

⑤⑦ L'invention concerne notamment des mélanges pepti-
diques caractérisés en ce qu'ils comprennent des oligomè-
res mixtes de L-lysine et de L-arginine et/ou des dérivés de
ceux-ci, ainsi que des compositions cosmétiques les conte-
nant, utiles pour limiter ou retarder les effets du vieillisse-
ment sur la peau.

FR 2 740 453 - A1



L'invention concerne des mélanges peptidiques contenant notamment des oligomères mixtes de L-lysine et de L-arginine; un procédé pour leur préparation ; et des compositions cosmétiques les contenant.

5 Il est rappelé dans le préambule de FR-A-2 708 938 déposé le 9 Août 1993 par la Demanderesse, que les oligomères de lysine sont des produits intéressants dans le domaine cosmétique, en particulier pour éviter ou retarder le vieillissement cutané résultant de la rigidification des
10 fibres de collagène. FR-A-2 708 938 décrit aussi un procédé de synthèse enzymatique d'oligomères de lysine qui consiste à soumettre un ester d'alkyle inférieur de L-lysine à l'action d'une protéase dans un milieu réactionnel formé d'un mélange de 1- ou 2- propanol et d'eau, et à poursuivre
15 la réaction au moins jusqu'à formation de deux phases distinctes.

La Demanderesse, poursuivant ses recherches, a maintenant trouvé que certains mélanges peptidiques présentent, vis-à-vis des oligomères de lysine, des
20 propriétés améliorées eu égard à la lutte contre les effets du vieillissement cutané.

L'invention concerne donc des mélanges peptidiques caractérisés en ce qu'ils comprennent des oligomères mixtes de L-lysine et de L-arginine et/ou des dérivés de ceux-ci.
25 Outre ces oligomères mixtes et/ou leurs dérivés, les mélanges peptidiques peuvent aussi contenir des oligomères de L-lysine et/ou des dérivés de ceux-ci, et des oligomères de L-arginine et/ou des dérivés de ceux-ci, ainsi que de la L-lysine et de la L-arginine résiduelles et/ou des dérivés
30 de celles-ci.

Aux fins de l'invention, le terme "dérivés" désigne tous dérivés résultant de la réaction des groupes carboxyle ou amino avec un réactif approprié. Des dérivés préférés sont les dérivés esters et amides. Les dérivés esters
35 peuvent être obtenus, par exemple, par réaction des groupes carboxyles du mélange peptidique avec un alcool contenant jusqu'à 18 atomes de carbone.

Les dérivés amides peuvent être obtenus, par exemple, soit par réaction des groupes carboxyles du mélange peptidique avec une fonction amine appartenant par exemple à un acide aminé, un ester d'acide aminé ou un peptide, soit

5 par réaction de groupes amino (groupe amino terminal ou ϵ -amino d'un résidu lysine) avec un groupe carboxyle d'un acide aminé, d'un peptide, ou d'un acide gras, saturé ou insaturé, en C_2-C_{18} , ou avec un halogénure d'acide carboxylique ou un anhydride d'acide carboxylique.

10 L'invention concerne aussi un procédé de préparation d'un mélange peptidique par soumission d'un substrat comprenant un ester d'alkyle inférieur de L-lysine ou un dérivé de celui-ci, à l'action d'au moins une enzyme protéase ou d'une préparation à activité protéolytique, dans

15 un milieu réactionnel agité, constitué d'un mélange de 70 à 90% en volume de 1-propanol et/ou de 2-propanol et de 10 à 30% en volume d'eau, et poursuite de la réaction au moins jusqu'à la formation de deux phases distinctes, caractérisé en ce que ledit substrat comprend, outre ledit ester

20 d'alkyle inférieur de L-lysine ou ledit dérivé de celui-ci, un ester d'alkyle inférieur de L-arginine ou un dérivé de celui-ci, de sorte que le mélange peptidique résultant contienne des oligomères mixtes de L-lysine et de L-arginine.

25 Par "dérivé d'ester d'alkyle inférieur de L-lysine", on entend notamment les sels d'acides tels que les dichlorhydrates, diacétates, etc.....

Les substrats ester d'alkyle de L-lysine et ester d'alkyle de L-arginine peuvent être utilisés en toutes

30 proportions désirées, mais sont de préférence utilisés en proportions telles que le rapport molaire ester de lysine/ester d'arginine soit dans la gamme de 5:1 à 1:5.

L'invention concerne enfin les compositions cosmétiques contenant un mélange peptidique selon l'invention. Elle

35 concerne, en particulier, de telles compositions cosmétiques destinées à limiter ou retarder les effets du vieillissement sur la peau.

Ces compositions cosmétiques peuvent se présenter sous diverses formes telles que crèmes, émulsions aqueuses, gels, solutions aqueuses, etc...

La proportion de mélange peptidique présente dans les compositions cosmétiques n'est pas cruciale, mais habituellement on en incorporera au moins 0,05% en poids, car en-dessous de cette quantité l'efficacité risque d'être trop faible. Il n'y a pas de limite supérieure critique, si ce n'est celle dictée par des considérations économiques. Habituellement, il n'y a pas d'avantage particulier à incorporer plus de 5% en poids de mélange peptidique.

Les compositions cosmétiques peuvent être appliquées sur le visage, y compris les paupières, les mains et toutes autres parties du corps désirées.

Ainsi qu'on le verra dans les exemples ci-après, les mélanges peptidiques de l'invention sont capables de diminuer la glycation des protéines (réaction non enzymatique des sucres réducteurs, tels que le glucose, avec des fonctions amines des protéines pouvant conduire, après une série de réactions complexes, à la formation de liaisons transversales entre les molécules de protéines) et la réaction des protéines avec un produit de l'oxydation des lipides insaturés, le malondialdéhyde, qui sont deux des mécanismes supposés du vieillissement cutané, du fait de leur aptitude à réagir avec des sucres réducteurs et des aldéhydes. Par cette réaction, au moins une partie des sucres réducteurs et du malondialdéhyde est convertie en produits de réaction inoffensifs de sorte que leur action, en tant qu'agents du vieillissement cutané, est réduite, voire annihilée.

Les exemples non limitatifs suivants sont donnés dans le but d'illustrer l'invention.

Exemple 1 -

Préparation d'un mélange peptidique selon l'invention

On prépare un mélange selon l'invention par un procédé similaire à celui décrit dans FR-A-2 708 938, dont les enseignements sont incorporés ici par référence. Le mélange

réactionnel de départ avait la composition suivante :

- Ester éthylique de L-lysine, 2 HCl : 0,24M
- Ester éthylique de L-arginine, 2 HCl : 0,06M
- Trypsine (900 U(U.S.P.)/mg) : 0,50g/l
- 5 - 2-propanol : 80% v/v
- NaOH : 0,33N
- pH initial : 9,0

On a laissé le mélange réactionnel incuber à 25°C, sous agitation, pendant 6 heures.

- 10 Au cours de la réaction, on a observé la séparation du milieu réactionnel en 2 phases. Après 6 heures d'incubation et arrêt de l'agitation, le milieu réactionnel était composé d'une phase inférieure contenant les produits de la réaction de synthèse et une faible proportion d'alcool, et
- 15 représentant 10 à 15% du volume réactionnel total, et une phase supérieure contenant une très faible quantité d'acides aminés et de peptides, une grande proportion d'alcool, et représentant 85 à 90% du volume réactionnel total.

- 20 La phase inférieure a été récupérée, le pH ajusté à 5,0 à l'aide d'HCl, l'enzyme a été dénaturée par chauffage et l'alcool évaporé. La matière sèche de la préparation est finalement ajustée à 40% p/p avec de l'eau.

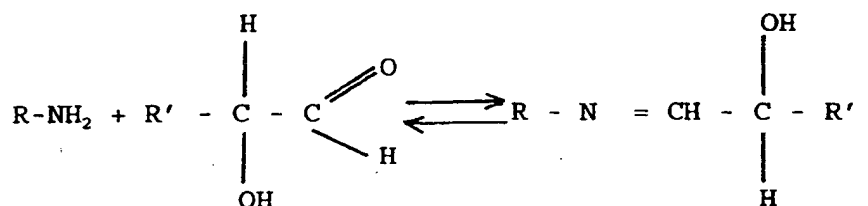
Typiquement la matière sèche de la solution aqueuse finalement obtenue se compose de :

- 25 - L-lysine, HCl : 25 ± 3%
- L-arginine, HCl : 9 ± 2%
- Peptides de l-lysine (Na⁺, Cl⁻) : 34 ± 4%
- Peptides de L-arginine (Na⁺, Cl⁻) : 1 ± 0,5%
- Peptides mixtes de L-lysine et
- 30 de L-arginine (Na⁺, Cl⁻) : 15 ± 2,5%
- Chlorure de sodium : 16 ± 3%

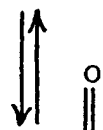
Ce mélange de peptides possède une activité anti-glycation et une activité anti-malondialdéhyde.

- 35 Dans la glycation des protéines les protéines réagissent par leurs fonctions amines (NH₂ terminal ou ε-NH₂ de résidus lysine) avec des sucres réducteurs, notamment le glucose qui est le sucre le plus abondant dans l'organisme,

selon la réaction chimique ci-dessous :



Base de Schiff



Produit d'Amadori

(produit d'addition sucre-protéine
qui est un produit précoce de
glycation)

Dans le cas des protéines à longue durée de vie, telles
que le collagène, ce produit d'Amadori peut évoluer selon
une série de réactions complexes (fragmentations,
décarboxylations,.....) jusqu'à des produits stables (dits
produits de glycation avancée) consistant en des réticulats
des protéines. Un type de liaisons transversales
actuellement identifié est la pentosidine qui lie le résidu
lysine d'une protéine au résidu arginine d'une autre
protéine par l'intermédiaire d'une structure à 5 atomes de
carbone du type 4-azabenzimidazole (J. Biol. Chem. 264,
21597, 1989 ; J. Biol. Chem. 266, 11654, 1991).

EXEMPLE 2

Activité anti-glycation en utilisant le modèle albumine de sérum bovin et glucose

L'objectif est d'étudier l'effet des peptides sur la
formation du produit précoce de glycation, le produit
d'Amadori.

Conditions opératoires : de l'ASB est incubée à 50 g/l
(concentration physiologique) dans du tampon phosphate de
sodium pH 7,4, 0,50 M contenant du glucose à 5 mM
(concentration physiologique) et en présence éventuellement
de 2,0% de solution de peptides (matière sèche : 40% p/p),

le tout à 37°C dans des tubes fermés.

Après 11 jours à 37°C, les milieux réactionnels sont dialysés, et les liaisons cétoamines associées à l'ASB (produit d'Amadori) sont dosées à l'aide du nitrobleu de 5 tétrazolium (Sigma A-465).

Trois mesures ont été effectuées et l'écart-type a été calculé (Tableau 1).

TABLEAU 1

Liaisons cétoamines formées après 11 jours d'incubation à 10 37°C, pH 7,4 (glucose : 5 mM ; ASB : 50 g/l)

Milieu	Cétoamine, moyenne, mM	Ecart-Type
ASB	1,606	0,126
ASB + glucose	2,130	0,061
15 ASB + glucose + peptides (2,0%)	1,827	0,029
ASB + glucose + lysine (30 mM)	1,905	0,007
ASB + glucose + arginine (30 mM)	1,853	0,016

20 Les peptides sont capables d'inhiber la formation de liaisons cétoamines de manière sensiblement plus efficace que les acides aminés constitutifs.

25 Lorsque les peptides (ou acides aminés constitutifs) sont incubés pendant 11 jours à 37°C, pH 7,4 en présence de glucose à 5 mM, le glucose résiduel est plus important en présence des acides aminés que des peptides, indiquant un pouvoir de captation du glucose par les peptides plus élevé que celui des acides aminés (Tableau 2).

TABLEAU 2

Captation du glucose (5 mM)

Milieu contenant:	Glucose résiduel, moyenne, mM	Ecart-type
Peptides (2,0%)	4,63	0,09
Lysine (30 mM)	4,72	0,15
Arginine (30 mM)	4,87	0,12

Exemple 3Activité anti-glycation en utilisant le modèle albumine de sérum bovin (ASB) et ribose

10 L'objectif est d'étudier l'effet des peptides sur la formation des produits de glycation avancée, notamment de pentosidine.

Conditions opératoires : de l'ASB est incubée à 25 g/l dans du tampon phosphate de sodium pH 7,4, 0,50M contenant
15 du ribose à 50 mM et en présence éventuellement de 2,9% du mélange peptidique obtenu à l'exemple 1 (matière sèche : 40% p/p), le tout à 37°C dans des tubes fermés.

Après 1 et 2 semaines, on procède à 2 opérations :

20 - l'analyse par chromatographie par perméation de gel de la préparation pour mettre en évidence des réticulats de l'ASB,

25 - après purification (élimination des produits d'addition peptides-ribose), mesure de l'émission de fluorescence à 385 nm (excitation à 335 nm), conditions correspondant à la mise en évidence de liaisons transversales lysine-ribose-arginine (pentosidine).

Les résultats (Tableau 3) indiquent que :

- le mélange de peptides est capable d'inhiber la réticulation de l'ASB,

30 - la quantité de dérivé fluorescent correspondant à la pentosidine est plus faible en présence des peptides qu'en leur absence, montrant l'inhibition de la formation de pentosidine associée à l'ASB par ces peptides.

TABLEAU 3

Milieu d'incubation	Intensité de fluorescence relative, %	Réticulation de l'ASB
ASB, 1 et 2 semaines	0	0
ASB + ribose, 1 semaine	68	+
ASB + ribose + peptides 1 semaine	45	0
ASB + ribose, 2 semaines	100	++
ASB + ribose + peptides 2 semaines	45	0

10 A l'heure actuelle et sans vouloir être lié à une théorie quelconque, on suppose que les peptides peuvent inhiber la réticulation de l'ASB selon 2 modes :

- soit venir réagir sur un produit d'addition ribose-ASB et empêcher la formation d'un réticulat ASB-ribose-ASB,
- 15 - soit réagir avec le ribose pour former un produit d'addition ribose-peptide, diminuant ainsi le ribose "efficace" induisant la réticulation de la protéine.

Nous avons trouvé que les peptides sont capables de réagir avec les sucres réducteurs tels que le ribose en
20 dosant :

a) les dérivés sensibles au bleu de tétrazolium (Sigma 465-A). En effet le nitrobleu de tétrazolium réduit les cétoamines (produits d'Amadori) et forme un dérivé formazan pourpre dosable à 530 nm. Les résultats sont donnés au
25 Tableau 4.

b) les peptides résiduels après incubation avec du ribose. Les résultats sont donnés au Tableau 5.

TABLEAU 4

Formation de cétoamines entre les peptides et le ribose (4j, 37°C, pH 7,4)

5	Milieu contenant :	Liaisons cétoamines, mM
	Ribose : 50 mM	0
	Peptides : 2,9%	0
	Ribose (50 mM) + peptides (2,9%)	17,0

TABLEAU 5

- 10 Evolution d'une partie du mélange de peptides après 4 jours d'incubation en présence de ribose à 50 mM (peptides : 2,9%; 37°C, pH 7,4)

15	Peptide*	Teneur initiale dans la partie choisie du mélange, %	Proportion qui a réagi avec le ribose, %
	(LYS) ₂	41,3	44,6
	(LYS-ARG) (ARG-LYS)	14,6	44,6
	(LYS) ₃	22,9	60,1
	Tripeptides (LYS, ARG)**	11,9	61,3
20	(LYS) ₄	9,3	72,5

* cette partie du mélange représente plus de 50% en poids du mélange total

** contenant de la lysine et de l'arginine

- 25 Tous les peptides réagissent avec le ribose. Néanmoins les peptides de degré de polymérisation égal ou supérieur à 3 réagissent plus efficacement que les dipeptides.

EXEMPLE 4

Activité anti-glycation en utilisant le modèle collagène et glucose

L'objectif est d'étudier l'inhibition par les peptides de la formation des liaisons transversales entre des molécules de collagène induite par le glucose.

5 Le collagène étant insoluble au pH physiologique, l'évolution in vitro des produits précoces de glycation (associations protéine-glucose) vers des produits de glycation avancée (agglomérats de protéines liées entre elles par des liaisons transversales) est plus rapide que dans le cas d'une protéine soluble.

10 Conditions opératoires : des fibrilles de collagène (collagène bovin de type I, acido-soluble) sont incubées à raison d'environ 1 g/l dans du tampon phosphate de sodium pH 7,4, 0,50 M contenant soit du glucose à 100 mM et en présence éventuellement de 6,0% de solution de peptides
15 (matière sèche : 40% p/p), soit du glucose à 50 mM et en présence éventuellement de 3,0% de la solution de peptides, soit du glucose à 25 mM et en présence éventuellement de 1,5% de la solution de peptides, le tout à 37°C dans des tubes fermés.

20 Après 2 et 3 semaines d'incubation, les fibrilles de collagène sont collectées par centrifugation et le milieu liquide est éliminé. Les protéines sont hydrolysées en milieu acide (acide formique à 70% V/V) par le CNBr (bromure de cyanogène). Les peptides sont ensuite purifiés par
25 dialyse (élimination de l'acide formique, du CNBr) puis lyophilisés. La population de peptides est alors caractérisée par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (acrylamide : 4 à 15%) dans des conditions dénaturantes (milieu réducteur contenant du dodécylsulfate de sodium).

30 Mise en évidence des peptides par AgNO_3 .

On a alors recherché si :

- en présence de sucre et sans peptides, on a des produits de masse molaire supérieure à 96,4 kDa (masse molaire de la chaîne α du collagène de type I) ou 61,0 kDa
35 (kilodaltons) (masse molaire de la fraction de masse molaire plus élevée obtenue après hydrolyse du collagène par le CNBr) et correspondant à des peptides liés par un résidu

osidique (signe de la réticulation induite par le glucose),

- en présence de sucre et de peptides, ces produits de masse molaire supérieure à 96,4 ou 61,0 kDa n'apparaissent pas ou en moindre quantité que précédemment.

5 Les résultats sont :

- après 2 semaines d'incubation, des produits de masse molaire supérieure à 96,4 kDa sont présents dans les préparations obtenues à partir des milieux d'incubation contenant le glucose indiquant une réticulation du collagène induite par le glucose. De tels produits sont absents dans les préparations obtenues à partir des milieux d'incubation contenant le glucose et les peptides, indiquant l'inhibition de la réticulation du collagène induite par le glucose par les peptides,

15 - après trois semaines d'incubation, les résultats ci-dessus sont confirmés.

EXEMPLE 5

Activité anti-malondialdéhyde

L'objectif est d'étudier l'interaction entre les peptides et le malondialdéhyde, produit résultant de l'oxydation des acides gras polyinsaturés.

Conditions opératoires : on incube du malondialdéhyde (0,96 mM) en présence du mélange de peptides à 1,5% (solution à 40% p/p) ou de lysine ou d'arginine à 25 mM, à pH 7,4 (tampon phosphate de sodium 0,1 M) à 25°C ou 37°C.

Après 4, 10 et 16 jours d'incubation, on dose le malondialdéhyde résiduel à l'aide du réactif à l'acide thiobarbiturique de façon à mettre en évidence la captation du malondialdéhyde par les peptides (Tableaux 6 et 7).

Après 4 et 10 jours d'incubation, on a analysé par HPLC la population de peptides pour évaluer la réactivité de chacun des peptides d'une partie choisie du mélange (Tableaux 8 et 9).

TABLEAU 6

MDA capté à 37°C, en mM

5

Durée	4 jours	10 jours	16 jours
Peptides	0,207	0,285	0,348
Lysine	0,066	0,132	0,153
Arginine	0,084	0,144	0,231

TABLEAU 7

MDA capté à 25°C, en mM

10

Durée	4 jours	10 jours	16 jours
Peptides	0,141	0,174	0,210
Lysine	0,048	0,087	-
Arginine	0,018	0,108	-

On voit que le mélange de peptides réagit avec le malondialdéhyde, et ceci de manière plus efficace que les acides aminés constitutifs.

15

TABLEAU 8

Réaction d'une partie du mélange de peptides avec le MDA à 37°C

20

25

Produit	Teneur initiale dans la partie choisie du mélange, %	Proportion qui a réagi avec le MDA à 4 jours, %	Proportion qui a réagi avec le MDA à 10 jours, %
(LYS) ₂	41,3	49,1	53,5
(LYS-ARG) (ARG-LYS)	14,6	55,4	77,9
(LYS) ₃	22,9	52,6	89,4
Tripeptides (LYS, ARG)	11,9	49,4	88,4
(LYS) ₄	9,3	55,5	87,1

TABLEAU 9

Réaction d'une partie du mélange de peptides avec le MDA à 25°C

5	Produit	Teneur initiale, dans la partie choisie du mélange, %	Proportion qui a réagi avec le MDA à 4 jours, %	Proportion qui a réagi avec le MDA à 10 jours, %
	(LYS) ₂	41,3	25,3	28,1
	(LYS-ARG) (ARG-LYS)	14,6	32,9	57,1
	(LYS) ₃	22,9	24,3	56,1
10	Tripeptide (LYS, ARG)	11,9	22,3	66,2
	(LYS) ₄	9,3	27,5	58,4

On observe que tous les peptides réagissent avec le malondialdéhyde et ce, d'autant plus fortement que la température est élevée. On remarque aussi que le dipeptide mixte LYS-ARG est plus réactif que le dipeptide LYS-LYS, ce qui démontre l'avantage offert par le mélange peptidique de l'invention.

EXEMPLE 6

On donne ci-après quelques exemples de formulation de compositions cosmétiques contenant le mélange peptidique de l'invention, préparé à l'Exemple 1 et ayant une teneur en matière sèche de 40% en poids.

Composition d'émulsion A

Constituants	Ingrédients actifs	Pourcentages	Fournisseurs
EMULGADE 1000 NI	Alcool cétéarylique et ceteareth-20	9	SIDOBRE SINNOVA
MIGLYOL 812	Triglycéride caprilique caprique	5	HULS
SILICONE VOLATILE DC 344	Cyclo-méthicone	3	DOW CORNING
NATROSOL 250	Hydroxyéthyl cellulose	1	AQUALON
CUTINA GMS	Stéarate de glycéryle	0,5	HENKEL
GD 700	Phénoxy-éthanol + Méthyl-paraben + Butyl-paraben + Isobutyl-paraben + Propyl-paraben + Ethyl-paraben + (Méthyl-chloro- et Méthyl-isothiazolinones)	0,3	PHYTOCOS
EAU		QSP 100	
MELANGE PEPTIDIQUE		2	

Composition d'émulsion B

	Constituants	Ingrédients actifs	Pourcentages	Fournisseurs
	MONTANOL 68	Cétéaryl glucoside	5	SEPPIC
	BUTANOL G	Octyldo-décanol	5	HENKEL
5	GLYCERINE	Glycérine	5	
	CUTINA GMS	Stéarate de glycéryle	3	HENKEL
	SIPOL 16/18 C7	Alcool cétéostéarylique	3	SIDOBRE SINNOVA
	GD 700	Phénoxy-éthanol + Méthyl-paraben + Butyl-paraben + Isobutyl-paraben + Propyl-paraben + Ethyl-paraben + (Méthyl-chloro- et Méthyl-isothiazolinones)	0,3	PHYTOCOS
10	EAU		QSP 100	
	MELANGE PEPTIDIQUE		2	

Gel pour contours des yeux

	<u>Constituants</u>	<u>Pourcentage</u>
15	Phase A	
	1 - Carbopol 934*	1,00
	2 - Eau	qsp 100
	Phase B	
	3 - Conservateur GD700**	0,30
20	4 - Fucogel 1000 (SOLABIA)	10,00
	5 - Mélange peptidique	1,00

6 - Parfum

0,20

Phase C

7 - Triéthanolamine

1,00

Phase D

5 8 - Sepigel***

1,50

* vendu par B.F. GOODRICH

** vendu par PHYTOCOS

*** vendu par SEPPIC

Le gel est préparé en un processus à 4 étapes :

10 PHASE A :

On disperse et on laisse gonfler.

On mélange sous forte agitation et sous vide.

PHASE B :

15 On ajoute les constituants 3, 4, 5 et 6 tout en continuant d'agiter.

PHASE C :

On ajoute le constituant 7 tout en continuant d'agiter jusqu'à l'obtention d'un gel homogène.

PHASE D :

20 On ajoute le constituant 8 jusqu'à obtention d'un gel opale homogène.

Il va de soi que les modes de réalisation décrits ne sont que des exemples et l'on pourrait les modifier, notamment par substitution d'équivalents techniques, sans
25 sortir pour cela du cadre de l'invention.

REVENDICATIONS

1. Mélanges peptidiques caractérisés en ce qu'ils comprennent des oligomères mixtes de L-lysine et de L-arginine et/ou des dérivés de ceux-ci.

5 2. Mélanges peptidiques selon la revendication 1, caractérisés en ce qu'ils contiennent, en outre, des oligomères de L-lysine et/ou des dérivés de ceux-ci, et des oligomères de L-arginine et/ou des dérivés de ceux-ci, ainsi que de la L-lysine et de la L-arginine résiduelles et/ou des
10 dérivés de celles-ci.

3. Mélanges peptidiques selon la revendication 1 ou 2, caractérisés en ce que lesdits dérivés sont des dérivés esters.

4. Mélanges peptidiques selon la revendication 1 ou 2,
15 caractérisés en ce que lesdits dérivés sont des dérivés amides.

5. Procédé de préparation d'un mélange peptidique par soumission d'un substrat comprenant un ester d'alkyle inférieur de L-lysine ou un dérivé de celui-ci, à l'action
20 d'au moins une enzyme protéase ou d'une préparation à activité protéolytique, dans un milieu réactionnel agité, constitué d'un mélange de 70 à 90% en volume de 1-propanol et/ou de 2-propanol et de 10 à 30% en volume d'eau, et poursuite de la réaction au moins jusqu'à la formation de
25 deux phases distinctes, caractérisé en ce que ledit substrat comprend, outre ledit ester d'alkyle inférieur de L-lysine ou ledit dérivé de celui-ci, un ester d'alkyle inférieur de L-arginine ou un dérivé de celui-ci, de sorte que le mélange peptidique résultant contienne des oligomères mixtes de L-
30 lysine et de L-arginine.

6. Procédé selon la revendication 5, caractérisé en ce que le rapport molaire de l'ester de L-lysine à l'ester de L-arginine est dans la gamme de 5 : 1 à 1 : 5.

7. Compositions cosmétiques caractérisées en ce
35 qu'elles contiennent un mélange peptidique selon l'une quelconque des revendications 1 à 4.

8. Compositions cosmétiques selon la revendication 7,

caractérisées en ce qu'elles contiennent au moins 0,05% en poids du mélange peptidique.

RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIREétabli sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

2740453

N° d'enregistrement
nationalFA 519515
FR 9512729

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 9216 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 92-128237 XP002008744 & JP-A-04 071 498 (CHISSO CORP) , 6 Mars 1992 * abrégé *	1-5
D,X	FR-A-2 708 938 (BIOEUROPE) 17 Février 1995 * revendications; exemples *	1-8
A	DE-A-41 27 790 (WANK ANNA) 25 Février 1993 * revendications; exemples *	1-4,7,8
A	EP-A-0 452 161 (SANOFI SA) 16 Octobre 1991 * revendications; exemples *	1,7,8
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)
		C07K C12P C08G A61K C08K
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
18 Juillet 1996		Fuhr, C
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES		
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons A : membre de la même famille, document correspondant		

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.